

(19)



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) Veröffentlichungsnummer: **0 505 920 A1**

(12)

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: **92104751.0**

(51) Int. Cl.<sup>5</sup>: **C14C 1/08**

(22) Anmeldetag: **19.03.92**

(30) Priorität: **26.03.91 DE 4109826**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**30.09.92 Patentblatt 92/40**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE DK ES FR GB IT LI NL SE**

(71) Anmelder: **RÖHM GMBH**  
**Kirschenallee**  
**W-6100 Darmstadt(DE)**

(72) Erfinder: **Christner, Jürgen, Dr.**  
**Tannenstrasse 7 B**  
**W-6104 Seeheim-Jugenheim(DE)**  
Erfinder: **Taeger, Tilman, Dr.**  
**Breslauer Strasse 35**  
**W-6104 Seeheim-Jugenheim(DE)**  
Erfinder: **Wick, Gertrud**  
**Aumühlenweg 36**  
**W-6100 Darmstadt 12(DE)**

(54) **Enzymatisch unterstützte Äscher- und Beizverfahren.**

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung gerbfertiger Blößen aus Häuten und Fellen unter Verwendung von proteolytischen und lipolytischen Enzymen in der Wasserwerkstatt, wobei bei wenigstens einem der Teilschritte der Wasserwerkstatt bestehend aus

- a) dem Äscher im pH-Bereich 11,5 - 14 und der
- b) Beize im pH-Bereich 5 - 11,5

in den diesen Teilschritten entsprechenden wäßrigen Flotten alkalische Lipasen (E.C.3.1.3.) mit einem Wirkungsoptimum im pH-Bereich 9 - 11 eingesetzt werden.

EP 0 505 920 A1

## Gebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft enzymatisch unterstützte Äscher- und Beizverfahren wobei alkalische Lipasen, vorzugsweise in Kombination mit proteolytischen Enzymen zur Anwendung kommen.

## Stand der Technik

- Der gezielte Einsatz von Enzymen bei der Lederherstellung nahm seinen Anfang mit der Einführung der enzymatischen Beize durch Dr. Otto Röhm im Jahre 1907 (DE-PS 200 519). Seit dieser Zeit wurde - auf dem Hintergrund eines zunehmenden oekologischen Bewußtseins - die Anwendung von Proteasen bei verschiedenen Teiloperationen der Wasserwerkstatt vorgeschlagen und auch praktisch verwirklicht (vgl. E. Pfeleiderer und R. Reiner in Biotechnology Ed. H.-J. Rehm S. 729 - 743, VCH 1988). Auch Amylasen, insbesondere in Kombination mit Proteasen haben ebenfalls Eingang in das Beiz-Verfahren der Wasserwerkstatt gefunden (US-A 4 273 876). Die gleichzeitige Anwendung von Lipase und Amylase (in Form des Pankreatins) in Anwesenheit von Desoxycholsäure ist aus dem ungar. Patent 3325 (Chem. Abstr. 77, 7341 k) bekannt. Naturgemäß bietet sich die Verwendung von Lipasen zur Entfettung von Häuten und Fellen, insbesondere der stark fetthaltigen Schweinhäute und Schaffelle und von Abfällen an. Allerdings stehen Anwendungsempfehlungen bei der Entfettung (z.B. L.H. Posorske J. Am. Oil Chem. Soc. 61 (11) 1758 - 1760 (1984); K. Yeshodha et al. Leather sci (Madras) 25 (2) 77 - 86 (1978), Chem. Abstr. 89, 199097; T. Nielsen Fette, Seifen, Anstrichm. 87 (1) 15 - 19 (1985) auch negative Erfahrungen z.B. bei gepickelten und entkälkten Schafsbälben gegenüber (vgl. A. Vulliermet et al. Technicuir 16 (4) 64 - 76 (1982), Chem. Abstr. 97, 57467 q; Chem. Abstr. 82, 113205g). In der letzteren Literaturstelle wird ein enzymatischer Fettabbau mittels Lipasen bzw. lipasehaltiger Enzympräparationen in einem pH-Bereich unterhalb 8, vorzugsweise im mäßig sauren pH-Bereich in Erwägung gezogen.
- In "Biotechnology" Ed. H.-J. Rehm Bd. 7a loc.cit S. 644 wird angemerkt, daß mikrobielle und pankreatische Lipasen (E.C.3.1.1.3) nicht als Waschmittel-Enzyme angewendet werden können, wegen der notorischen Instabilität unter alkalischen Bedingungen, ganz abgesehen vom Preis derselben. Gegen eine gemeinsame Anwendung von Lipasen und Proteasen spricht von vorneherein die Abbauwirkung von Proteasen gegenüber Proteinen, wie sie die Lipasen darstellen.
- In jüngster Zeit wird ein enzymatisch unterstütztes Weichverfahren für Häute und Felle empfohlen bei dem die Weichflotten
- A) Lipasen mit einem Wirkungsoptimum im pH-Bereich 9 bis 11
  - B) Proteasen mit Wirksamkeit im pH-Bereich 9 - 11 und
  - C) Grenzflächenaktive Agentien enthalten, wobei der pH-Wert der Weichflotte im Bereich 9 - 11 liegt (vgl. deutsche Patentanmeldung P 39 22 748.0).
- Als besonders geeignet werden dabei aus Aspergillus-Arten gewonnene und speziell gewisse, genetisch veränderte Stämme befunden, beispielsweise eine alkalische Lipase aus einem durch Rekombination gewonnenen Aspergillus-oryzae-Stamm mit ausgeprägtem Aktivitäts-Optimum zwischen pH 9 und 11 sowie eine unter der Bezeichnung "LIPOLASE 100 T" im Handel befindliche Lipase (NOVO INDUSTRI A/S, DK 2880 Bagsvaerd).

## Aufgabe und Lösung

- Nach wie vor stellt die Verarbeitung sehr **fettreicher** Rohware (wie Schweine, Schaffelle, Abfälle etc.) die Lederhersteller vor schwierige Probleme. Diese Probleme lassen sich unter den Stichworten: unzureichende Durchäscherung und Grundreinheit der Bälben nach dem Hautaufschluß sowie Bildung störender Kalkseifen, die zu unangenehmen Verschmierungen auf der Haut führen können, einordnen. Auch die Beize fettreicher Bälben bereitet Schwierigkeiten, da ein oberflächlich anhaftender Fettfilm die Penetration der Beizenzyme hindern und der optimalen Grundlockerung entgegenwirken kann.
- Die Lehre der oben genannten deutschen Patentanmeldung P 39 22 748.0 geht nicht über die Anwendung bestimmter Lipasen in der Weiche, d.h. im pH-Bereich 9 - 11 hinaus. Da diese Enzyme laut Herstellerangabe ihr pH-Optimum im Bereich 10 - 11 besitzen, schien die Anwendungsempfehlung gemäß der oben genannten deutschen Patentanmeldung wenigstens hinsichtlich dieses Parameters innerhalb eines vernünftigerweise in Betracht zu ziehenden Bereichs zu liegen. Ein Überschreiten dieses pH-Bereichs schien von vorneherein kaum erfolgversprechend, mußte der Fachmann doch, je weiter man sich vom genannten Bereich entfernt, mit erheblich reduzierter Wirksamkeit und verminderter Stabilität rechnen. Es wurde nun gefunden, daß überraschenderweise alkalische Lipasen AL für die ein pH-Optimum bei ca. 9 - 11, insbesondere 10 - 11, charakteristisch ist, in der Wasserwerkstatt bei den Teilschritten

- a) des Äschers im pH-Bereich 11,5 - 14, insbesondere 12 - 13,5, speziell 12 - 13 und  
 b) der Beize im pH-Bereich 5 - 11,5, insbesondere 7 - 9,5, speziell 8 - 9 in den diesen Teilschritten entsprechenden wäßrigen Flotten vorteilhaft angewendet werden können.

- Dabei ist die Wirkung besonders ausgeprägt, wenn die genannten Lipasen in einer Enzymkombination  
 5 EK zusammen mit neutralen bzw. alkalischen Proteasen P zur Anwendung kommen, die dem fraglichen Teilschritt entsprechend ausgewählt sind. Dabei handelt es sich vorzugsweise um die in der Technik einschlägig angewendeten Proteasen. Unter dem Äscher sei der bekannte Prozeß der Oberhautschwellung und Lockerung bis zur Entfernung der Haare und Grannen unter Einwirkung von alkalischen Äscher-Chemikalien verstanden (vgl. F. Stather, Gerbereichemie und Gerbereitechnologie, S. 166 - 199, Akademie-  
 10 Verlag 1967; Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 5th Ed. Vol., A15, 259 - 282, VCH 1990). Je nach der Verfahrensführung kann der Äscher haarerhaltend oder haarzerstörend gestaltet werden. Der Äscher wird im allgemeinen im pH-Bereich 12 - 13 durchgeführt, entweder in Form des sogenannten "Hydroxyläschers", wo insbesondere Calciumhydroxid neben Alkalihydroxid, Ammoniak und anderen Erdalkalihydroxiden eingesetzt wird oder in Form des sogenannten Sulfidäschers, dessen wirksame Bestandteile  
 15 Alkali- oder Erdalkalisulfide gegebenenfalls in Mischung mit anderen basischen Alkalien bzw. Erdalkalien sind. Das erfindungsgemäße Äscherverfahren schließt sich sehr weitgehend an die Verfahren des Standes der Technik an (Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 5th Ed. Vol. 15A, 259 - 282, VCH (1990); Ullmanns Enzyklopädie der Techn. Chemie, 4. Aufl. Bd. 16, S. 119 - 120 Verlag Chemie (1978), 3. Aufl. Bd. 11, S. 609, Urban & Schwarzenberg 19..).  
 20 Der Arbeitsgang des Äschers kann erfindungsgemäß mit einer Flottenlänge von 50 - 250, vorzugsweise 80 bis 150 % Wasser bezogen auf das Gewicht der Häute durchgeführt werden.

- Im allgemeinen nimmt der Äschervorgang 12 bis 36 Stunden, insbesondere 16 bis 20 Stunden in Anspruch.  
 In den Schritten der Entkalkung und Beize, welche in der Wasserwerkstatt dem Äscher nachgeschaltet sind, werden die Häute und Felle neutralisiert und enzymatisch geäschert. Die Häute bzw. Felle werden  
 25 dabei zunächst gewaschen und mittels vorzugsweise schwacher Säuren, beispielsweise organischen Säuren wie Milchsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, Propionsäure, oder Dicarbonsäuren u.ä. oder schwach saurer anorganischer Verbindungen wie Natriumbisulfit, Sulfophthalsäure, Ammonsulfat oder auch Kohlensäure entkalkt. Im allgemeinen achtet man bei der Entkalkung darauf, daß ein für den nachfolgenden Enzymsatz in der Beize günstiger pH-Bereich resultiert. Für pankreatische Enzyme liegt  
 30 dieser Bereich bei pH 7,5 - 8,2. Die nachfolgende Beize dient zur Entfernung von Epidermis- und Haarresten und zum zusätzlichen Hautaufschluß. In der Regel wird nach einer gewissen Zeit die enzymatische Beizkomponente insbesondere Enzyme des pankreatischen Komplexes zugegeben. Zu den Enzymen des pankreatischen Komplexes können auch Lipasen gehören (DE-A 37 04 465). Für die Beiztemperatur hat sich der Bereich zwischen 32 und 37 Grad C als zweckmäßig erwiesen. Die Beizdauer hält sich im  
 35 allgemeinen im Bereich 1 Stunde bis 3 Stunden.

- Vorzugsweise enthalten die enzymatischen Ansätze, speziell die mit der Enzymkombination EK durchgeführten noch an sich bekannte Sequestrieremittel SM, vorab zwecks Vermeidung von Kalkseifen.  
 Ferner hat sich der Zusatz von emulgierwirksamen Substanzen ES bewährt, der zu besonders guter Fettemulgierung führt. Die Flottenlänge entspricht dabei der bei der Durchführung des Äschers.  
 40

#### Die alkalischen Lipasen AL

- Im Einklang mit den üblichen Definitionen handelt es sich bei den erfindungsgemäß anzuwendenden Lipasen um Esterasen, welche Glycerinester der Fettsäure in wäßriger Emulsion hydrolysieren (E.C. 3.1.1.3.). Bevorzugt findet die Spaltung der Triglyceride in 1,3-Stellung statt. Im Gegensatz zu den  
 45 einschlägig verwendeten Lipasen des Standes der Technik mit einem Einsatzbereich von pH 6 - 9 haben die erfindungsgemäß eingesetzten Lipasen ein ausgeprägtes Wirkungsoptimum (z.B. gegenüber Olivenöl oder Tributyrin) zwischen pH 9 und 11. Derartige alkalische Lipasen wurden speziell für die Waschmittelindustrie entwickelt. Sie sind mikrobiologischen Ursprungs. Potentielle Quellen für derartige, gegebenenfalls  
 50 genetisch veränderte Mikroorganismen-Stämme sind insbesondere Pilze und Bakterien. Gewisse alkalische Lipasen kommen z.B. in Pseudomonas-Stämmen vor. Weiter kommen Rhizopus sp., Candida sp., Chromobacterium sp. als Lipase-Lieferanten infrage. Weitere wichtige Lipase-Produzenten sind Geotrichum sp., Aspergillus sp., Mucor sp., Penicillium sp., Corynebacterium sp., Propionibacterium sp. und Achromobacter sp.. Genannt seien speziell Rhizopus arrhizus und Rh. oryzae, Candida cylindracea, Chromobacterium  
 55 viscosum, Geotrichum Candidum, Mucor miehi, Mucor pusillus, Penicillium roqueforti und P. cyclopium, Corynebacterium acne, Propionibacterium shermanii, Achromobacter lipolyticum, Aspergillus niger, insbesondere Aspergillus oryzae. Als besonders geeignet wurden auch gewisse genetisch veränderte Stämme befunden, z.B. eine alkalische Lipase aus einem durch Rekombination gewonnenen Aspergillus oryzae-

Stamm mit ausgeprägtem Aktivitätsoptimum zwischen pH 9 und 11 oder eine unter der Bezeichnung ® Lipolase TM 30 T im Handel befindlichen Lipase (NOVO INDUSTRI A/S, DK 2880 Bagsvaerd, Dänemark).

In herkömmlicher Weise wird die Aktivitätsbestimmung von Lipasen mit Olivenöl als Substrat durchgeführt, ferner mit Triacetin und Tributyrin. [Vgl. M. Sémériva et al. Biochemistry 10, 2143 (1971); Pharmaceutical Enzymes, edited by R. Ruysen and A. Lauwers 1978, (FIP)]. Soweit die fettsplattende Aktivität in Kilo-Lipase-Units (Einheit = KLCA) ausgedrückt wird, wird unter den Standardbedingungen 40 Grad C, pH = 5,5 mit Tributyrin als Substrat gearbeitet. (Vgl. M. Sémériva, oben zitierte Literaturstelle).

Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung wird die Lipaseaktivität in LCA-Einheiten angegeben, wobei jedoch bei pH 9,5 gemessen wird. Erfindungsgemäß werden die Lipasen so eingesetzt, daß bei pH 9,5 in der Flotte eine Lipaseaktivität von 100 - 10 000 LCA, vorzugsweise 2 000 bis 4 000 LCA pro kg Haut vorhanden ist.

#### Die proteolytischen Enzyme P

Die Anwendung von Proteasen im Äscher, die im pH-Bereich zwischen 9 und 13 eine ausreichende proteolytische Wirksamkeit entfalten, ist an sich bekannt. Es handelt sich um neutrale (E.C.3.4.24) und insbesondere alkalische Proteasen (E.C.3.4.21) [vgl. Kirk-Othmer, 3rd. Ed. pp. 199 - 202, J. Wiley 1990; Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Vol., A9, pp. 409 - 414, VCH 1987, L. Keay in "Process Biochemistry 17 - 21 (1971)]. Im Einzelnen sind dies

- Alkalische Proteasen, die ihr Wirkungsoptimum etwa im Bereich pH 8,5 - 13 entfalten. Dazu gehören alkalische Bakterienproteasen, die zumeist der Serin-Typ angehören und alkalische Pilzproteasen. Genannt seien vor allem die Proteasen aus Bacillus-Stämmen wie B.subtilis, B.licheniformis, B.firmus, B.alcalophilus, B.polymixa, B.mesentericus, ferner Streptomyces-Stämme wie S.alcalophilus. Die günstigste Arbeitstemperatur mit alkalischen Bakterien-Proteasen liegt im allgemeinen bei 40 - 60 Grad C, bei Pilzproteasen eher bei 20 - 40 Grad C. Als alkalische Pilzproteasen seien genannt, solche aus Aspergillus-Stämmen wie A.oryzae, aus Penicillin-Stämmen wie P.cyanofulvum oder aus Paecilomyces persicinus u.ä. Die Aktivität der alkalischen Pilzproteasen liegt vorwiegend im pH-Bereich 8,0 - 11,0. Man kann als eine Faustregel von einer Enzymaktivität, die zwischen 8 000 und 10 000 Löhlein-Volhard-Einheiten [LVE] pro Gramm Enzym liegt, ausgehen.
- Neutrale Proteasen mit Wirkungsoptimum im Bereich von pH 6,0 - 9,0. Dazu gehören insbesondere neutrale Bakterienproteasen, die in der Regel zu den Metalloenzymen gehören und Pilzproteasen beispielsweise neutrale Bacillus-Proteasen, wie B.subtilis, B.natto und B.polymixa, Pseudomonas-Proteasen, Streptomyces-Proteasen, Aspergillus-Proteasen aus A.oryzae, A.parasiticus und Penicillium glaucum. Neutrale Bakterienproteasen entfalten ihre Aktivität optimal bei Arbeitstemperaturen von 20 - 50 Grad C, wogegen die günstigste Arbeitstemperatur für neutrale Pilzproteasen bei 35 - 40 Grad C liegt.

Die proteolytische Wirksamkeit der Enzyme wird gebräuchlicherweise nach der Anson-Haemoglobin-Methode [M.L. Anson, J. Gen. Physiol, 22, 79 (1939)] bzw. nach der Löhlein-Volhard-Methode [modifiziert nach TEGEWA in Leder 22, 121 - 126 (1971)] bestimmt. Dabei entspricht eine Löhlein-Volhard-Einheit (LVE) unter den Testbedingungen (1 Stunde, 37 Grad C) einer Enzymmenge, die in 20 ml Casein-Filtrat einen Anstieg an Hydrolyseprodukt entsprechend einem Äquivalent von  $5,75 \times 10^{-3}$  ml 0,1 n NaOH hervorruft. Die Protease-Aktivität liegt im allgemeinen zwischen 1 000 und 60 000 LVE pro kg Haut, vorzugsweise zwischen 2 000 und 14 000 LVE pro kg Haut.

Je nach Aktivität kommt man bei dem erfindungsgemäßen Verfahren gewöhnlich mit Proteasemengen zwischen 0,05 bis 0,8 Gew.-%, als Faustregel etwa 0,1 - 0,25 Gew.-% bezogen auf das Gewicht der eingesetzten Häute und Felle aus.

Als (synthetische) grenzflächenaktive Substanzen kommen z.B. an sich übliche Emulgatoren in Frage, insbesondere solche, die sich zum Emulgieren von Fett in Wasser eignen. (Vgl. GB-PS 586 540, DE-PS 894 142, FR-PS 899 983, FR-PS 918 523). In erster Linie eignen sich nicht-ionogene Emulgatoren, beispielsweise der folgenden Typen:

#### I. Polyglykolderivate (in Klammer beispielhafte Handelsprodukte)

$\alpha$ ) Fettsäurepolyglykolen	(EMULPHOR ®)
$\beta$ ) Fettalkoholpolyglykoether	(DEHYDOL ®)
$\gamma$ ) Alkylphenolpolyglykoether	(EMULGIN ® 286, FLUIDOL W 100 ®, MARLOPHEN, IGEPALE ®)
$\delta$ ) Fettsäureethanolamidopolyglykoether	(C ®, FORYL KW ® EMULGIN)

## II. Glycerinderivate

$\alpha$ ) Fettsäuremonoglyceride	(TEGOMOLS ®)
$\beta$ ) Fettsäurepolyglycerinester	

Weiter anionische Emulgatoren beispielsweise der folgenden Typen:

## III. Sulfate R - OSO<sub>3</sub>Na

$\alpha$ ) Fettalkohlsulfate, primäre und sekundäre	EPPOL DL conc. ®, PERAMIT ML ® TEEPOL ®
$\beta$ ) Fettalkohlether-Sulfate	(TEXAPON Q ®)
$\gamma$ ) Monoglyceridsulfate	(VEL ®)
$\delta$ ) Sulfatierungsprodukte von ungesättigten Ölen und Fettsäuren	(LEDEROLINOR DKMS ®)

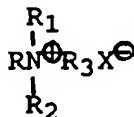
## IV. Sulfonate R SO<sub>3</sub>Na

$\alpha$ ) Alkylbenzolsulfonate (ABS, TPS)	(MARLOPON ®, MARLON ®)
$\beta$ ) Alkylsulfonat	(MERSOLAT ®)
$\gamma$ ) Fettsäurekondensationsprodukte	(IGEPALE ®, IGEPALE ®)
$\delta$ ) Petrosulfonate	(enthalten in: GRASSAN B ®)
$\epsilon$ ) Sulfatierungsprodukte von ungesättigten fetten Ölen und Fettsäuren	(CUTISAN BS ®)
$\zeta$ ) kurzkettige Alkylbenzolsulfonate, z.B. des Cumols, Toluols oder Xylenols	

Weniger vorteilhaft sind kationische Emulgatoren z.B. der Typen:

## V. Ammoniumsalze R NR<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> Hx (SAPAMIN ®, SOROMIN ®)

## VI. Quaternäre Ammoniumsalze



(REPELLAT ®)

$\alpha$ ) Ammoniumsalze

$\beta$ ) Pyridiniumsalze

wobei vorstehend der Rest R einen langkettigen Alkylrest mit 8 - 24 Kohlenstoffatomen, die Reste R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> oder R<sub>3</sub> in der Regel kurzkettige Alkylreste mit bis zu 6 C-Atomen bedeuten sollen.

Die erfindungsgemäß verwendbaren Emulgatoren haben einen HLB-Wert (O/W-Emulsion) von 8 - 18, vorzugsweise 9 - 15, speziell 12 - 15. (vgl. Ullmanns Encyklopädie der Techn. Chemie, 4. Auflage, Bd. 19). Vorteilhafterweise können auch Kombinationen von Emulgatoren verwendet werden, insbesondere von nichtionischen und anionischen Emulgatoren. Besonders genannt seien Emulgator-Kombinationen ES der folgenden Art (EO = Ethoxylierungsgrad):

- 5 x % C<sub>11</sub> - C<sub>13</sub> Fettalkoholethoxylat mit 6 - 10 EO  
 vorzugsweise 8 - 9 EO  
 y % C<sub>15</sub> - C<sub>17</sub> Paraffinsulfonat - Na-Salz  
 z % C<sub>16</sub> - C<sub>18</sub> Fettalkoholaminethoxalat 5 - 7 mol  
 10 Ethylenoxyd quaternisiert  
 ad. 100 % Wasser  
 wobei  
 x = 10 - 50 Gew.-%  
 y = 10 - 50 Gew.-%  
 15 z = 1 - 10 Gew.-%

Der Gehalt der Flotten an Emulgatoren liegt - in Abhängigkeit vom Typ - in der Regel bei 0,1 bis 1 Gew.-% bezogen auf Salz- bzw. Grüngewicht der Häute bzw. Felle. Bemerkenswerterweise treten die der obigen Zusammensetzung nach zu erwartenden Ausfällungen bei Anwendung der bevorzugten Kombination nicht ein. Ferner können die Flotten noch an sich bekannte Sequestriermittel enthalten. Die Sequestriermittel sind  
 20 ausgewählt aus der Gruppe, gebildet aus den Polyphosphaten, Phosphonaten, Polycarboxylaten, Ethylendi-  
 amin-tetraessigsäure (EDTA); Nitrilotriessigsäure, Diethylentriaminopentaessigsäure. Der Gehalt der Weich-  
 flotte an den Sequestriermitteln kann 0 bis 0,5 Gew.-% vorzugsweise 0,05 bis 0,15 Gew.-% betragen. (Vgl. Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd Ed. Vol. 5, S. 344 - 345, J. Wiley 1979).

Im einzelnen kann bei der Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens wie folgt verfahren werden:  
 25 Die angewendeten Lipasen entsprechen der vorstehend angegebenen Kennzeichnung, ebenso die Proteasen.

#### Äscherverfahren

30 In den geweichten Häuten bzw. Fellen werden bei haarversulzenden Verfahren die Enzyme bzw. Enzymkombinationen zu Prozeßbeginn zugegeben. Bewährt haben sich insbesondere Enzymkombinationen EK welche folgende Zusammensetzung haben:

35 100 - 1 000 KLVE 0,1 - 5 Gew.-% 1,0 - 20 Gew.-% ad 100 Gew.-%	alkal. Bakterienprotease z.B.: aus Bac.subtilis, Bac.licheniformis Lipase mit der Aktivität 5 000 LU/mg Na-tripolyphosphat Natriumsulfat
--	---

40 Die Dosierung des Produkts liegt üblicherweise im Bereich von 0,05 - 1 % bezüglich Salzgewicht oder Frischgewicht der Häute.

Als Richtwert für die Flottenlänge seien 150 ± 50 % angegeben; die Temperatur liegt vorzugsweise bei 28 Grad C. Obwohl Schwefelälscher enthält die Äscherbrühe relativ geringe Anteile an den Äscherchemikalien, typischerweise Natriumsulfhydrat (72 %ig) - als Richtwert ca. 0,6 Gew.-% - und Natriumsulfid (60 %ig)  
 45 - als Richtwert ca. 0,2 Gew.-%, sowie Kalkhydrat - Richtwert ca. 1,5 Gew.-% - bezogen auf die Häute bei einem pH-Wert von 12,8.

Man bewegt ca. 1 1/2 Stunden unter diesen Bedingungen bevor man die Enzyme, insbesondere die Enzymkombination EK-II- als Richtwert in Anteilen von ca. 0,3 Gew.-%, vorzugsweise mit etwa der gleichen Menge Kalkhydrat wie bereits angewendet und läßt zunächst für eine kürzere Zeit unter ständigem  
 50 Bewegen, so dann über einen größeren Zeitraum, beispielsweise ca. 16 Stunden unter gelegentlichem Rühren reagieren.

Nach Ablassen der Flotte und Waschen, vorzugsweise mit ca. 150 % Wasser bei 28 Grad C erhält man Blößen von sehr guter Qualität. Hervorzuheben ist z.B. die Glätte und die Grundreinheit der Blößen.

Bei haarerhaltenden Äscherverfahren wird wie üblich eine Weiche der Häute bzw. Felle vorgenommen.  
 55 Es wurde gefunden, daß Häute und Felle, welche mit einer alkalischen Protease bei pH 8 - 11 4 - 20 Stunden vorbehandelt bzw. geweicht werden und anschließend bei demselben pH Wert 2 - 6 Stunden mit der alkalischen Lipase im gleichen oder einem neuen Bad versetzt werden, für eine anschließende proteolytische Enthaarung hervorragend zubereitet sind. Vorteilhafterweise schließt sich an die Weiche ein

Haarimmunisierungsschritt an, bei dem - in Anlehnung an DE-A 38 02 640 - Kalkhydrat und organische Thioverbindungen zusammen mit Aminen in ca. 80 % Wasser bei ca. pH 12 zur Anwendung kommen können. Dann folgt gewöhnlich eine Haarlockerungsstufe. Bei Verwendung der erfindungsgemäß einzusetzenden Enzymkombinationen EK-II kommt man mit einer stark reduzierten Menge an Sulfid aus, beispielsweise 0,4 Gew.-% Natriumsulphydrat (72 %ig) bezogen auf die Häute. Nach relativ kurzer Zeit, beispielsweise ca. 2 Stunden sind die Häute haarfrei. Man gibt zweckmäßig noch ca. 70 Gew.-% Wasser zusammen mit ca. 2 Gew.-% Kalkhydrat und ca. 0,3 Gew.-% Natronlauge (50 %) zu und läßt über einen gewissen Zeitraum, zweckmäßig ca. 14 Stunden bei 28 Grad C unter intervallmäßigem, kurzzeitigem Bewegen weiterlaufen. Anschließend wird die Flotte abgelassen und die weitere Bearbeitung in betriebsüblicher Weise fortgesetzt. Üblicherweise kann sich an den Äschervorgang das Entfleischen und Spalten der Häute anschließen.

#### Beize

Das in üblicher Weise vorbereitete Hautmaterial, z.B. entfleischte und gesplattene Blößen werden in der Regel zunächst in der üblichen Weise gewaschen und entkälkt (s. oben). Im allgemeinen genügt ein Zusatz von ca. 2 Gew.-% bezogen auf das Hautmaterial an Entkalkungsmittel zu einer Flotte von ca. 50 % und bei 30 Grad C beispielsweise in Form der oben erwähnten Säuren (z.B. Kohlendioxid oder Dicarbonsäuren in Kombination mit Ammonsalzen), die zweckmäßig in zwei Portionen zu je 1 Gew.-% zugegeben und jeweils 10 bzw. 20 Minuten zur Einwirkung gebracht werden, wobei der pH in den Bereich um ca. 8,5 absinkt. Für die eigentliche Beize gibt man in der Regel nochmals etwa die gleiche Menge Wasser, vorzugsweise mit 35 Grad C zu und setzt die Enzyme vorzugsweise als Enzymkombination EK zu.

Zur Anwendung kommen in der Regel Enzymkombinationen EK folgender typischer Zusammensetzung:

50 - 1 00 KLVE	Pankreasenzymkomplex
0,5 - 5 Gew.-%	alkalische Lipase mit der Aktivität 5 000 LU/mg
1,0 - 30 Gew.-%	Na-tripolyphosphat
ad. 100 Gew.-%	Na-sulfat oder Ammoniumsulfat

Das erfindungsgemäße Produkt wird bei 30 - 35 Grad C während 20 - 120 min zu 0,5 - 2 % bezogen auf das Blößengewicht nach der Entkalkung eingesetzt.

Zweckmäßig wird ca. 1 Stunde bei 33 Grad C bewegt, wobei der pH bei ca. 8 - 8,5, Richtwert 7,9 liegt. Anschließend wird die Flotte abgelassen und gewöhnlich mit etwa 200 % Wasser bei ca. 22 Grad C und unter Bewegen gewaschen. Daran können sich in betriebsüblicher Weise Pickel und Chromgerbung anschließen.

#### Vorteilhafte Wirkungen

Die erfindungsgemäßen Verfahren beruhen auf der Beobachtung, daß Enzympräparate, die eine oder mehrere Lipasen enthalten, deren Wirkungsoptimum laut Herstellerangaben im pH-Bereich 10 - 11 liegt, sowohl unter den Bedingungen des Äschers bei einem pH von ca. 13 als auch in der Beize im pH-Bereich 7 - 9 mit hervorragendem Erfolg angewendet werden können. Besonders ausgeprägt ist die Wirkung in Kombination mit entsprechenden neutralen und alkalischen Proteasen; die unter den Stichworten:

- Verbesserte Lockerung des Pigmentgrundes
- Verbesserte Entfettung der Blößen
- weniger Mastfalten und Narbenzug
- Durchführung einer sulfidfreien wie auch einer sulfidarmen haarerhaltenden Enthaarung

zusammengefaßt sei.

Bei der Anwendung der alkalischen Lipasen in der Beize bei pH 7 - 9 vorzugsweise in Kombination mit Pankreasenzymen beobachtet man vor allem auch eine verbesserte Lockerung von Grund und Gneist.

Die folgenden Beispiele dienen zur Erläuterung der Erfindung:

#### BEISPIELE

#### Angewandte Produkte:

Produkt EK-I: Lipasehaltiges Beizmittel

5	100 KLVE	Pankreasenzymkomplex
	1 Gew.-%	alkalische Lipase (® Lipolase 100 T NOVO) 5 000 LU/mg
	15 Gew.-%	Na-tripolyphosphat
	20 Gew.-%	Na-sulfat
	ad. 100 Gew.-%	Ammoniumsulfat

10

Produkt EK-II: Lipasehaltiges Äscherhilfsmittel

15	500 KLVE	alkal. Bakterienprotease aus Bacillus subtilis
	2 Gew.-%	Lipase alkal. (® Lipolase 100 T)
	ad. 100 Gew.-%	Na-sulfat

20

Entkalkungsmittel:

Basis Ammoniumsulfat/Dicarbonsäuren

25 Emulgator-Kombination ES:

30	15 Gew.-%	C <sub>13</sub> -Fettalkoholethoxylat mit 8 Mol Ethylenoxid
	15 Gew.-%	C <sub>15</sub> -Paraffinsulfonat-Na-salz
	6 Gew.-%	C <sub>16</sub> -C <sub>18</sub> -Fettaminethoxylat mit 6 Mol Ethylenoxid - quaterniert
	ad. 100 Gew.-%	Wasser

35 Versuch 1:

Herstellung von weichem Schuhoberleder - Beize

Material:

40

Gespaltene Rinderblößen (2,5 mm) (Angaben bezogen auf das Blößengewicht)

Ausgangsmaterial:

45 100 kg Hautmaterial

Waschen:

50

200 %	Wasser, 30 Grad C, 10' bewegen Flotte ab
-------	--

Entkalkung:

55



# EP 0 505 920 A1

50 %	Wasser 30 Grad C
1 %	Entkalkungsmittel 10' bewegen
+ 1 %	Entkalkungsmittel 20' bewegen K = pH 8,5 farblos

5

Beize:

10

+ 50 %	Wasser 35 Grad C
1 %	Produkt EK-I je 60' bewegen pH 8,3, Temperatur 33 Grad C Flotte ab.

15 Waschen:

200 %	Wasser, 22 Grad C, 10' bewegen Flotte ab
-------	--

20

Pickel/Chromgerbung:

betriebsüblich

25

Analysedaten:

30

Fettgehalt in der Flotte:	0,6 g/l
Fettgehalt in der Blöße:	0,25 % bzgl. Trockengewicht

Zum Vergleich wurde ein Versuch durchgeführt mit dem gleichen Produkt wie Produkt 1, jedoch ohne Lipase:

35

Fettgehalt in der Flotte:	0,4 g/l
Fettgehalt in der Blöße:	0,4 % bzgl. Trockengewicht

40

Versuch 2:

Herstellung von Bekleidungsleder (Schaf-)Beize (Angaben bezogen auf Blößengewicht)

45 Ausgangsmaterial:

100 kg ungespaltene Schafsblößen  
Gerbfäß

50 Waschen:

200 %	Wasser 30 Grad C 10 min bewegen Flotte ablassen
-------	---

55

Entkalkung:

# EP 0 505 920 A1

50,0 % 1,4 %	Wasser 30 Grad C bewegen Entkalkungsmittel, 20 min bewegen pH 8,6
-----------------	--

5

Beize:

10

+ 50,0 % 0,3 % 1,0 %	Wasser 35 Grad C Emulgator ES Produkt EK-I 2 Std. bewegen pH 8,5, Temperatur 32 Grad C Flotte ablassen
----------------------------	--

15

Waschen:

200,0 %	Wasser; 22 Grad C 10 min. laufen Flotte ablassen
---------	--

20

Pickel/Gerbung:

betriebsüblich

25

Analysendaten:

Fettgehalt:

30

Flotte	9,8 g/l
Blöße	3,5 % bzgl. Trockengehalt

35

Im Vergleich wurde Produkt 1 in der gleichen Arbeitsweise, jedoch ohne alkalische Lipase getestet:

Fettgehalt:

40

Flotte	6,1 g/l
Blöße:	4,9 % bzgl. Trockengehalt

45

Versuch 3

Herstellung von Bekleidungsleder (Schweine-)Beize

Material:

50

auf 2,0 mm gespaltene Schweinsblößen

Gerbfaß (Angaben beziehen sich auf Blößengewicht)

Waschen:

55

## EP 0 505 920 A1

200 %	Wasser 30 Grad C; 10 min, Flotte ablassen
-------	---

5 Entkalkung:

50 %	Wasser 30 Grad C
2 %	Entkalkungsmittel 30 min bewegen Flotte pH 8,6

Beize:

+ 100,0 %	Wasser, 35 Grad C
0,3 %	Emulgatorkombination ES
1,0 %	Produkt EK-I 90 min bewegen pH = 8,3; Temperatur 33 Grad C

Waschen:

200 %	Wasser; 22 Grad C 10 min. bewegen Flotte ablassen
-------	---

Pickel/Chromgerbung:

betriebsüblich

Analysendaten

35 Fettgehalt:

Flotte	13,1 g/l
Blöße	7,1 % bzgl. Trockengehalt

Im Vergleich wurde Produkt 1 ohne alkalische Lipase in der gleichen Arbeitsweise eingesetzt:

Fettgehalt:

Flotte	10,2 g/l
Blöße	8,9 % bzgl. Trockengehalt

Versuch 4

Enzymatische Enthaarung von Schaffellen

Material:

# EP 0 505 920 A1

5	200,0 % 0,1 %	Wasser, 28 Grad C nichtionischer Emulgator, Basis C <sub>13</sub> -Fettalkohl mit 8 Mol Ethylenoxid 20 min bewegen 30 min ruhen 20 min bewegen Flotte ablassen
---	------------------	---

10 Hauptweiche:

15	200,0 % 0,2 % 0,7 %	Wasser, 26 Grad C enzymatisches Weichmittel auf Basis proteolytischer Enzyme aus Bacillus licheniformis; 4 000 LVE/g Soda; pH 9 - 10 260 min bewegen Flotte ablassen
----	---------------------------	--

20 Enthaarung:

25	200,0 % 0,005 %	Wasser, 32 Grad C Lipase, alkalisch mit 5 000 LU/mg
	0,6 - 1,1 %	Soda, pH 8 - 10 3 - 4 Stunden bewegen
30	+ 2,0 %	proteolytisches Enthaarungsenzym aus Aspergillus parasiticus, 4 000 LVE/g 60 min bewegen dann weitere 16 - 24 Stunden (pro Stunde 1 min) bewegen; pH = 9,1 Temperatur = 28 Grad C Flotte ablassen Enthaaren

35 Waschen:

40	200 %	Wasser, 26 Grad C 10 min bewegen Flotte ablassen Hautaufschluß betriebsüblich mit Kalkhydratbehandlung über 4 - 8 Stunden
----	-------	--

45 Versuch 5:

Äscherverfahren von ges. Rindshäuten Gew.-KI 30 - 39 kg (sulfidarm) zur Herstellung von Möbelleider

50 Gerbfaß:

Vorweiche:

55

# EP 0 505 920 A1

150 %	Wasser, 26 Grad G 30 min bewegen, 30 min ruhen, Flotte ablassen
-------	--

5

Weiche:

10

150,0 % 0,3 %	Wasser, 26 Grad C nichtionogenes Tensid - Basis
0,25 %	proteolytisches Enzymprodukt aus Bac.subtilis; 4 400 LVE/g Natronlauge (33 %) pH 9,5 - 10 6 Stunden bewegen Flotte ablassen

15

20

Äscher:

150,0 % 0,6 % 0,2 %	Wasser, 28 Grad C Natriumsulphhydrat (72 %) Schwefelnatrium (60 %)
1,5 %	Kalkhydrat; pH 12,8 90 min bewegen
+ 0,3 %	Versuchsprodukt EK-II
1,5 %	Kalkhydrat 30 min bewegen, dann weitere 16 Stunden (pro Stunde 2 min) bewegen Flotte ablassen

25

30

35

Waschen:

150,0 %	Wasser, 28 Grad C 10 min bewegen Flotte ablassen Die Blößen sind sehr glatt und grundrein
---------	--

40

45

Versuch 6

Haarerhaltendes Äscherverfahren von ges. Rindshäuten, Gew.-KI 30 - 39 kg, Zur Herstellung von Möbelle-

50

Gerbfaß:

Vorweiche:

55

150,0 %	Wasser, 26 Grad C
0,1 %	nichtionogenes Tensid auf der Basis Talgfettethoxylat 2 Stunden (30 min ruhen, 30 min bewegen)

Weiche:

150,0 % 0,2 %	Wasser, 28 Grad C nichtionogenes Tensid auf der Basis Fettalkoholethoxylat
0,25 %	proteolytisches Enzymprodukt aus Bacillus subtilis, 4 400 LVE/g mit Natronlauge (33 %) auf pH 9,5 - 10 5 Stunden bewegen Flotte ablassen

Immunisierung:

80,0 % 1,5 %	Wasser, 28 Grad C Äscherhilfsmittel auf Basis Alkanolamine und organ. Thioverbindungen
1,2 %	Kalkhydrat 60 min bewegen
+ 0,6 %	Natriumsulfhydrat, 72 %
0,3 %	Versuchsprodukt EK-II nach 2 Stunden sind Häute haarfrei
+ 70,0 % 2,0 %	Wasser, 28 Grad C Kalkhydrat
0,3 %	Natronlauge (50 %) 14 Stunden (jede Stunde 2 min bewegen) Flotte ablassen Weitere Arbeiten betriebsüblich

Die Behandlung mit dem erfindungsgemäßen Enzymprodukt erlaubt es, auf den Nachäscher zu verzichten. Der Hautaufschluß ist nach 16 - 18 Stunden Prozeßdauer optimal.

#### Patentansprüche

- Verfahren zur Herstellung gerbfertiger Blößen aus Häuten und Fellen unter Verwendung von proteolytischen und lipolytischen Enzymen in der Wasserwerkstatt,

dadurch gekennzeichnet,

daß man bei wenigstens einem der Teilschritte der Wasserwerkstatt bestehend aus

- dem Äscher im pH-Bereich 11,5 - 14 und der
- Beize im pH-Bereich 5 - 11,5

in den diesen Teilschritten entsprechenden wäßrigen Flotten alkalische Lipasen (E.C.3.1.3.) mit einem Wirkungsoptimum im pH-Bereich 9 - 11 einsetzt.

- Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man die alkalischen Lipasen gleichzeitig mit alkalischen Proteasen (E.C.3.4.21) oder neutralen Proteasen (E.C.3.4.24) einsetzt.

3. Verfahren gemäß den Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß man als Proteasen solche des pankreatischen Komplexes einsetzt.
4. Verfahren gemäß den Ansprüchen 1 - 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Enzyme zusammen mit an sich bekannten grenzflächenaktiven Substanzen zur Anwendung kommen.
5. Verfahren gemäß den Ansprüchen 1 - 4, dadurch gekennzeichnet, daß man den Äscher a) im pH-Bereich 12 - 13,5 durchführt.
6. Verfahren gemäß den Ansprüchen 1 - 5, dadurch gekennzeichnet, daß man die Beize im pH-Bereich 8 - 9 durchführt.
7. Verfahren gemäß den Ansprüchen 1 - 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Enzyme gleichzeitig mit an sich bekannten Sequestriermitteln zur Anwendung kommen.
8. Verfahren gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Flottenlänge 50 - 250 % beträgt.
9. Verfahren gemäß Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Flottenlänge  $150 \pm 50$  % beträgt.



Europäisches  
Patentamt

## EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 92 10 4751

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. CL5)
A	GB-A-2 233 665 (RÖHM) * Ansprüche 1-3 * & DE-A-3 922 748 (Kat. D) ---	1,2,7	C 14 C 1/08
A	FR-A- 469 758 (L. KRALL) * Anspruch; Seite 1, Zeile 58; Seite 2, Zeile 1 * ---	1	
A	DE-A-2 856 320 (RÖHM) * Anspruch 1 * & US-A-4 273 876 (Kat. D) -----	1	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. CL5)
			C 14 C
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort DEN HAAG		Abschlußdatum der Recherche 15-06-1992	Prüfer BEYSS E.
<b>KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE</b> X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument ..... A : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			